

氏 名	ひら い しずか 平 井 静
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1545 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科応用生物科学専攻
学位論文題目	Studies on the regulation of preadipocyte differentiation by paracrine factors secreted from muscle cells (筋細胞からのパラクリン因子による脂肪細胞分化制御に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教授 矢野 秀雄 教授 久米 新一 教授 今井 裕

### 論 文 内 容 の 要 旨

わが国における牛肉の肉質評価においては、脂肪交雑が大きく影響することから、脂肪交雑を高めることが高品質の牛肉を生産する際に重要であると考えられる。脂肪交雑とは筋肉内に含まれる脂肪組織の量であり、それは脂肪前駆細胞が脂肪細胞へと分化することによって増加すると考えられている。筋肉内脂肪組織は、その周辺を骨格筋組織により取り囲まれているため、筋細胞から分泌される因子が筋肉内脂肪前駆細胞の分化に大きな影響を及ぼしている可能性が考えられる。そこで本研究は、筋細胞から分泌されるパラクリン因子が脂肪細胞分化に及ぼす影響について検討することを目的に行った。

第 1 章では、脂肪交雑形成に局所因子が関与している可能性を示し、特に筋細胞から分泌され、筋肉内脂肪前駆細胞分化に影響を及ぼすと考えられる因子について概説した。

第 2 章では、本研究で取り上げるテーマやパラクリン因子についての従来の研究動向について概説した。

第 3 章では、筋細胞からのパラクリン因子が脂肪細胞分化に与える影響を検討するため、筋細胞としてマウス由来 C<sub>2</sub>C<sub>12</sub> 筋細胞を、脂肪前駆細胞としてマウス由来 3T3-L1 脂肪前駆細胞を用いて試験を行った。筋細胞の培養培地を脂肪前駆細胞の分化のさまざまなステージに添加したところ、培養培地中の高分子画分が、脂肪前駆細胞の分化を特に初期段階で抑制することが明らかとなった。このことから、生体内では筋細胞が分泌する高分子の因子が、筋肉内脂肪前駆細胞の分化を抑制している可能性が考えられた。そこで、このような因子の候補として、TGF- $\beta$ ファミリーに属し、脂肪前駆細胞の分化を抑制することが知られていたマイオスタチンに注目し、その結合タンパク質であるホリスタチンを筋細胞の培養培地とともに脂肪前駆細胞に添加した。その結果、筋細胞が分泌する因子による脂肪前駆細胞の分化抑制作用がホリスタチンの添加濃度依存的に回復した。すなわち、筋細胞から分泌される因子のうちホリスタチンによってその作用を抑えられる因子が、生体内では筋肉内脂肪前駆細胞の分化を抑制している可能性が高いことが示された。

第 4 章では、ウシの腎周囲脂肪由来の間質脈管系 (SV) 細胞を用いて、マイオスタチンが SV 細胞中のウシ脂肪前駆細胞分化に及ぼす影響を検討した。脂肪細胞分化に重要な転写因子の発現パターンは、ウシ脂肪前駆細胞と 3T3-L1 脂肪前駆細胞とで異なっていた。しかし、マイオスタチンは 3T3-L1 脂肪前駆細胞における報告と同様に、PPAR $\gamma$  および C/EBP $\alpha$  の発現低下を介してウシ脂肪前駆細胞分化を抑制し、また、この分化抑制作用は、マイオスタチンの結合タンパク質であるホリスタチンによって阻害された。

第 5 章では、アクチビンがウシ脂肪前駆細胞の分化に及ぼす影響について検討を行った。アクチビンは脳下垂体からの卵胞刺激ホルモンの分泌を促進する活性を持ったタンパク質として卵胞液中より見つかった因子であり、ホリスタチンは元来アクチビンの結合タンパク質として単離された。アクチビンは筋肉や脂肪組織を含む多くの組織においても発現していることが報告されているが、アクチビンが脂肪細胞分化に及ぼす影響は明らかではなかった。本研究で得られた結果から、マイオスタチン同様、アクチビンも脂肪前駆細胞の分化を抑制し、ホリスタチンとの共添加によりその抑制効果が回復することが明らかとなった。また、高濃度のホリスタチンを脂肪前駆細胞に共添加したところ分化促進作用が認められた。このこと

から、ウシにおいては脂肪前駆細胞で発現しているアクチビンまたはマイオスタチンが脂肪細胞分化に大きな影響を与えている可能性が示唆された。さらに、アクチビンが脂肪細胞分化を抑制するメカニズムを解明するため、3T3-L1 脂肪前駆細胞を用いてアクチビン添加試験を行った。その結果、脂肪細胞分化の過程で重要な転写因子である C/EBP $\beta$  の機能が、アクチビンによって抑制されていることが明らかとなった。

本研究により、筋細胞から分泌されるマイオスタチンやアクチビンは脂肪細胞分化を抑制し、その抑制作用はこれらの結合タンパク質であるホリスタチンによって阻害されることが明らかとなった。生体内において、筋肉内脂肪前駆細胞の分化は、これらの因子のバランスにより制御されている可能性が高いことが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

大規模な畜産に不向きな風土のわが国において、大規模畜産により低価格化が実現できる輸入牛肉と市場で共存・競争していくためには、海外では生産が困難である脂肪交雑度の高い高級牛肉を効率よく生産することが不可欠である。そのためには、脂肪交雑が形成されるメカニズムを解明することが重要となる。本論文は、脂肪交雑、つまり筋肉内における脂肪組織形成のメカニズムの一つとして、筋細胞からのパラクリン因子が脂肪前駆細胞分化に及ぼす影響について検討を行ったものであり、評価すべき点は以下のとおりである。

1. 従来から、筋芽細胞や脂肪前駆細胞の分化に対して、個々に影響を及ぼす因子に関する研究は多く行われてきたが、筋肉内脂肪前駆細胞の分化という観点での体系だった研究は、あまり報告されていなかった。本研究では、筋細胞の培養培地が脂肪前駆細胞の分化を抑制すること、また、その抑制作用がホリスタチンによって抑えられることを示し、筋細胞から分泌される因子のうち、ホリスタチンによってその作用を阻害される因子が、脂肪前駆細胞分化を抑制することを明らかにした。

2. ホリスタチンによって作用が抑制されるマイオスタチンが、実際にウシ脂肪前駆細胞の分化を抑制すること、また、その抑制作用がホリスタチンによって阻害されることを示した。

3. ホリスタチンによって作用が抑制されるアクチビンが、マイオスタチン同様、ウシ脂肪前駆細胞の分化を抑制すること、また、その抑制作用がホリスタチンによって阻害されることを示した。さらに、マイオスタチンと高濃度のホリスタチンの共添加が脂肪前駆細胞の分化を促進させることを示し、ウシ脂肪前駆細胞では、内因性のマイオスタチンまたはアクチビンがその分化を抑制している可能性が高いことを示唆した。

4. アクチビンが脂肪前駆細胞分化を抑制するメカニズムを追及し、アクチビンは脂肪細胞分化に重要な転写因子である C/EBP $\beta$  の DNA 結合能を阻害することにより、脂肪前駆細胞分化を初期段階で抑制することを明らかにした。

以上のように本研究は、筋細胞から分泌されるマイオスタチンやアクチビンが脂肪前駆細胞の分化を抑制し、その抑制作用が結合タンパク質であるホリスタチンによって阻害されることを明らかにすることを通して、これらの因子が生体内において筋肉内脂肪前駆細胞分化を制御していること、すなわち脂肪交雑形成に関与している可能性が高いことを示した。従って、畜産学ならびに動物栄養生理学の分野に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成18年1月19日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。